



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**“Efectividad del aceite Esencial de Molle (Schinus molle L.) para
inhibir el crecimiento de la Penicillium Digitatum In Vitro”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniero Ambiental

AUTOR:

Quispe Mendoza, Víctor Fernando (ORCID: 0000-0002-4789-0237)

ASESORA:

Mg. Cabello Torres, Rita Jaqueline (ORCID: 0000-0002-9965-9678)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A mis padres Víctor Quispe Guerra y María Mendoza Cirilo que siempre me apoyaron. A mis hermanas y demás familia en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de toda mi carrera universitaria.

AGRADECIMIENTO

A la Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres por brindarme su valioso tiempo, orientación y sobre todo por su gran paciencia a lo largo de la ejecución de la presente tesis.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
III. METODOLOGÍA.....	10
3.1 Tipo y Diseño de Investigación	10
3.2 Operacionalización de Variables	12
3.3 Población, Muestra y Muestreo Población	14
3.4 Técnicas e Instrumento de Recolección de Datos, Validez Y Confiabilidad .	14
3.5 Procedimiento.....	15
3.6 Métodos de Análisis de Datos	17
3.7 Aspectos Éticos	17
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS	31
ANEXOS	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Taxonomía molle.	5
Tabla 2: Composición Química de aceite esencial de molle (<i>Shinus molle</i> L.).	6
Tabla 3: Taxonomia <i>Penicillium Digitatum</i>	7
Tabla 4: Repeticiones de Experimentos.....	10
Tabla 5: Matriz de Operacional.....	13
Tabla 6: Materiales de Laboratorio.	14
Tabla 7: Equipo de Laboratorio de la Universidad Cesar Vallejo Lima – Este.....	15
Tabla 8: Cuadro de Datos Generales Día 1.	18
Tabla 9: Cuadro de Datos Generales Día 2.	19
Tabla 10: Cuadro de Resultados Día 3.	20
Tabla 11: Cuadro de Datos de Día 4.	21
Tabla 12: Cuadro de Datos de Día 5.	22
Tabla 13: Tabla de Control General.....	23
Tabla 14: Pruebas de normalidad de Shapiro Wilk.	25
Tabla 15: Prueba ANOVA de las distintas concentraciones de aceite esencial de molle.	26
Tabla 16: Matriz de Contingencia.....	41
Tabla 17: Ficha de recolección de datos.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fase Aislamiento y Cultivo de Cepa.....	11
Figura 2: Diagrama de flujo de análisis.....	12
Figura 3: Resultado Día 1.	19
Figura 4: Resultado Día 2.	20
Figura 5: Resultado Día 3.	21
Figura 6: Resultado Día 4.	22
Figura 7: Resultado Día 5.	23
Figura 8: Datos Generales de Inhibición.	24
Figura 9: Medias de las cantidades en mm de inhibición de <i>Penicillium Digitatum</i> mediante las distintas concentraciones de aceite esencial de molle.	27
Figura 10: Constancia de Taxonomía del Molle.	40
Figura 11: Destilación por Arrastre de Vapor.	42
Figura 12: Extracción del aceite esencial de molle.	42
Figura 13: Elaboración de placas Petri con caldo de papa dextrosa (PDB).	42
Figura 14: Aislamiento de <i>Penicillium Digitatum</i>	42
Figura 15: Cultivo de <i>Penicillium Digitatum</i>	43
Figura 16: <i>Penicillium Digitatum</i>	43
Figura 17: Distintas Concentraciones.	43
Figura 18: Concentración Mínima Inhibitoria.	43
Figura 19: Incubación de las Cepas.	43
Figura 20: Medición de Halos de Inhibición.	43

RESUMEN

Esta investigación fue de tipo experimental, se evaluó la efectividad inhibitoria presenta el aceite esencial del molle (*Schinus molle L.*) sobre la *Penicillium Digitatum*. Para ello se utilizarón 4 distintas concentraciones de aceite esencial en porcentajes de (100%, 75%, 50% y 25%). La efectividad del aceite de molle (*Schinus molle L.*) se determinó el uso del método difusión en discos. Que consiste en sembrar por dispersión el hongo *Penicillium Digitatum* con un hisopo estéril sobre una superficie de placas con agar de papa dextrosa (PDA). Luego se colocan placas sensibles para cada concentración del extracto a evaluar, incluidos los controles. Cada placa fue incubada a 25 °C durante 3 días en una incubadora. Los ensayos se realizaron 4 repeticiones por concentración de aceite. Los resultados indicaron que se presentó a la concentración de 25%, obteniéndose halos promedio de inhibición de 33.17 mm en 5 días. El control presento un halo de inhibición promedio de 0 mm. El aceite esencial de molle tiene una efectividad inhibitoria para inhibir el crecimiento del *Penicillium Digitatum* usando aceite esencial de molle en distintas concentraciones. Cual el que presenta el mayor promedio de Inhibición es usando el aceite esencial de molle al 25% de concentración.

Palabras clave: inhibición, *Penicillium Digitatum*, *Schinus molle L.*, *in vitro*

ABSTRACT

The present investigation was experimental, the inhibitory effectiveness of the essential oil of molle (*Schinus molle* L.) on *Penicillium Digitatum* was evaluated. For this purpose, 4 concentrations of essential oil in percentages of (100%, 75%, 50% and 25%) were used. The effectiveness of molle oil (*Schinus molle* L.) was determined using the disc diffusion method. It consists of sowing by dispersion on surface with sterile swab the fungus *Penicillium Digitatum* on the surface of plates with potato dextrose agar (PDA). Immediately afterwards, embedded sensitivity discs were placed with each of the concentrations of the extract to be evaluated, including the controls. Each plate was incubated at 25 ° C for 3 days in an incubator. The tests were performed 4 repetitions per oil concentration. The results indicated that it was presented at a concentration of 25%, obtaining average inhibition halos of 33.17 mm in 5 days. The control had an average inhibition halo of 0 mm. Molle essential oil has an inhibitory effectiveness to inhibit the growth of *Penicillium Digitatum* using molle essential oil in different concentrations. Which has the highest average inhibition is using the molle essential oil at 25% concentration.

Keywords: inhibition, *Penicillium Digitatum*, *Schinus molle* L., in vitro

I. INTRODUCCIÓN

Los cítricos son completamente susceptibles contraer una gran serie de enfermedades fúngicas pos-cosecha durante su depósito y traslado, debido al alto contenido de humedad y al valor nutricional. (Xin et al., 2019). La *Penicillium Digitatum* conocido como moho verde es un patógeno muy aprovechado que produce aproximadamente el 90% de pérdida total en la comercialización (Zhu et al., 2019). Desde los 1980 se ha tomado interés por los aceites esenciales para su uso en manipulación de plagas en productos almacenados. Los pesticidas artificiales actuales como el bromuro de metilo y la fosfina, que se manejan como fumigantes para el control de plagas del fruto almacenado poseen propiedades hostiles para el ambiente. (Kaan Polatoğlu, Ömer Cem Karakoç, 2016). Las materias primas a base de hierbas son aplicadas aproximadamente por el 80% de la población y son una base primordial para la síntesis de nuevos medicamentos (Singh et al., 2019). El uso de aceites esenciales para esta finalidad concede el manejo y almacenamiento, que reduce el riesgo para la salud humana y ambiental. La mayoría de aceites esenciales son frutos naturales elevadamente volátiles y no solubles en agua que han comprobado una alta eficiencia contra las plagas. (Sánchez et al., 2018). La complejidad de la estructura de los aceites esenciales y la gran variedad de la naturaleza química de sus elementos son responsables de una extensa gama de interacciones biológicas, son el tema de mayor interés para conservación de alimentos (MEHDI et al., 2016). Varios productos en base a plantas implementados tradicionalmente tocan áreas de investigación para la seguridad alimentaria y consumo ecológico. (Abhishek et al., 2017).

El uso de aceites esenciales es un método para controlar la descomposición de las manzanas después de la cosecha, se justifica por la toxicidad y la resistencia de los hongos patógenos a los fungicidas sintéticos. Los compuestos se identificaron por primera vez en el aceite esencial *Pulicaria mauritanica*, en una proporción de 94,3 g / 100 g del aceite total. La *carvotanacetona* dominó fuertemente la composición del aceite con 87,3 g / 100 g.

También se probó la actividad antifúngica del aceite de *P. mauritanica* mediante la técnica de alimentos envenenados y el ensayo de actividad volátil contra tres hongos

fitopatógenos, *Alternaria sp.*, *Penicillium expansum* y *Rhizopus stolonifer* causando el deterioro de las manzanas. La técnica de FP demostró ser significativa en la inhibición del crecimiento micelial de todas las cepas ($p < 0.05$), con la inhibición completa de *Alternaria sp.*, y *P. expansum* a CMI = 2 ml / ml. Del mismo modo, el ensayo demostró que el aceite esencial inhibe fuertemente los tres hongos. La inhibición completa del crecimiento micelial de *Alternaria sp.*, se observó en una concentración mínima inhibitoria = 20 ml / disco, y el de *P. expansum* y *R. stolonifer* se observó que una concentración mínima inhibitoria = 40 ml / disco. Los resultados sugieren que el aceite esencial de *P. mauritanica* tiene un potencial como conservantes antimicóticos para el control de enfermedades poscosecha de manzana. (Znini et al., 2013).

Los efectos del aceite esencial de *Austroeupatorium inulifolium* en el crecimiento y la producción de enzimas de especies fitopatógenas como *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* y *Fusarium spp.* "In vitro" mostraron una inhibición de hasta un 70%, siendo *P. brevicompactum* y *F. oxysporum* las cepas más sensibles, mientras que *Aspergillus parasiticus* y *Penicillium nalgiovense* fueron las más resistentes.

La pudrición vegetal causada por la plaga de *Fusarium* y *Rhizopus* aparece en las frutas almacenadas generando grandes pérdidas después a la cosecha. La implementación de productos naturales, como extractos de plantas para enfermedades fúngicas, representa un método alternativo a cambio de los fungicidas sintéticos, como es el caso de las pruebas de actividad anti fúngica in vitro realizadas usando extractos etanólicos y acuosos de hojas y ramas de *F. retinophylla*, *F. microphylla* y *Flourensia cernua* contra *Fusarium oxysporum* y *Rhizopus stolonifer*, el problema son las enfermedades que desarrollan en los frutos post cosecha y las pérdidas económicas en los cultivos de tomate. El perfil químico identificado en extractos de etanol de hojas y ramas de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*, fueron: 17 y 10 compuestos; 7 y 9 compuestos y 7 compuestos en los dos tejidos, respectivamente. Los extractos de etanol dieron a conocer una alta efectividad en la inhibición en el aumento micelial de *F. oxysporum* y *R. stolonifer*. *F. cernua* inhibió *F. oxysporum* en una concentración mínima inhibitoria (CMI) 90 de 2163 mg / L para extracto de etanol de hojas y 4240 mg / L para extracto de etanol de ramas. Los extractos de etanol representan una alternativa para usarse como fungicida botánico,

que podría reemplazar el uso de fungicidas sintéticos. (D. Jasso de Rodríguez et al., 2017).

Los efectos antifúngicos de la salvia, el romero, el anís, la quinua y los aceites esenciales salados contra el aumento del micelio de *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryza*, *Mucor pusillus* y *Fusarium oxysporum* se mostró que en condiciones in vitro. Mientras que los 10 µg / ml de aceite esencial salado mostraron un efecto inhibitorio contra los hongos probados, el aceite de anís no fue eficaz con la misma concentración. Los aceites esenciales de salvia mostraron un gran efecto inhibidor contra *M. pusillus* a diferencia de otros aceites esenciales. El nivel de 20 µg / ml de aceite fue eficaz sobre el *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryza*, *Mucor pusillus* y *Fusarium oxysporum*. Los aceites esenciales de salvia y romero fueron efectivos en *A. oryza*, *A. niger* y *Fusarium oxysporum* a concentraciones más bajas (10 y 20 µg / ml). El aceite esencial de quinua demostró un efecto antifúngico a ambas concentraciones (10 y 20 µg / ml) en todos los hongos analizados. Todo lo esencial probado los aceites mostraron efecto inhibitorio contra todos los hongos seleccionados. (Ferdes, M., Al Juhaime, F., Özcan, MM y Ghafoor, K. 2017)

La implementación de extractos de plantas es una alternativa a tales productos químicos porque se ha probado que son efectivos en el control de fitopatógenos y considerado con el medio ambiente ya que sus metabolitos secundarios son biodegradables fácilmente. Este estudio determinó la actividad antifúngica de extractos de diferente polaridad hallados de hojas de *Stevia rebaudiana* B. contra *Fusarium oxysporum*, un hongo responsable por la pérdida de cultivos de tomate. Extracto de hexano a una concentración de 833 ppm inhibió in vitro el crecimiento micelial en más del 50%. La división cromatográfica en columna del extracto de hexano dio una fracción con mayor actividad inhibitoria y el análisis espectroscópico mostró que la austroinulina como componente presente en el extracto. Los ensayos in vivo con plantas de tomate infectadas con *F. oxysporum* enseñaron que todas las plantas tratadas con el extracto eran más altas y tenían un mayor peso aéreo y de raíces secas que eran relativamente mayores que las de las plantas de control inoculadas con *F. oxysporum* a las que no se adicionaron extractos. En tratamientos sin *F. oxysporum* inoculo, la adición del extracto de hexano resultó en una mayor altura de la

planta y peso seco aéreo. Esto muestra que los extractos tienen metabolitos secundarios, introducida en la austroinulina, que no solo inhiben el aumento de la *F. oxysporum* sino que también podrían estar ejerciendo como bioestimulantes. Los extractos acuosos de etanol y hexano agregados a las plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* presentaron un efecto antifúngico y no fueron fitotóxicos. (Guerra et al., 2019).

Las enfermedades pos cosecha resultan en pérdidas económicas significativas en la producción de los cítricos (Wuryatmo, Able, Ford & Scott, 2014). La alteración fúngica pos cosecha más frecuente que afecta a los cítricos en el planeta es el verde moho, que es causado por *Penicillium Digitatum* y representa incluso 60–80% de la descomposición fúngica total durante el acopio de fruta. (Tao et al., 2018).

II. MARCO TEÓRICO

El aceite esencial es un fluido con aroma que se saca de algunas plantas por vapor o prensado, tienen componentes químicos naturales que le dan su "esencia" (olor y sabor específicos) a las plantas (Ahmady et al., 2019). Los aceites esenciales que se utilizan en los saborizantes de alimentos, los perfumes, los medicamentos y la aromaterapia (Ilic et al., 2019). Se pueden sustraer de distintas partes de los vegetales, como son: estigmas, semillas, frutos, raíces, rizomas, cortezas, hojas y flores (Himed et al., 2019). Esto se ubica generalmente en órganos secretores y eso cambia de acuerdo a la familia a la que la planta que corresponda. (W.P. Silvestrea N.F. Livinalli C. Baldasso I.C. Tessaro, 2018).

Schinus molle L., llamado también como pimienta rosa o americana es un árbol perteneciente a la familia Anacardiaceae, nativa de América del Sur, las frutas *Schinus molle* (bayas) son utilizadas como sustituto de la pimienta negra y para preparar bebidas alcohólicas y bebidas. (Martins et al., 2014). Es un árbol de hoja perenne al que puedes llegar de 3–15 metros de elevación con corteza de un color marrón oscuro, latente e intensamente fisurada. Las hojas son de forma imparipinnadas con un raquis alado y 20–40 folíolos. Los folíolos son lineales-lanceolados, de 2–5 × 0.4–0.8 cm, y enteros o dentados a lo extenso de los márgenes. (Machado et al., 2019).

Tabla 1: Taxonomía molle.

Taxonomía	
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Genero	Schinus
Especie	Schinus molle L.

Fuente: Museo de Historia Natural, (2019).

Schinus molle se usa como sedante, anti fúngico, antitumoral, antiespasmódico, diurético, antiséptico tópico y para tratar la hipertensión, heridas, infecciones bacterianas y asma. (Maema et al., 2016). Además, el aceite esencial de molle usa como adyuvante en diversas aplicaciones en productos alimenticios debido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes o como antiparasitario en el ganado y la apicultura (Guala et al., 2016).

Tabla 2: Composición Química de aceite esencial de molle (*Shinus molle* L.).

Chemical Composition of <i>Schinus molle</i> L. Essential Oil	
Compound	(%)
Alpha-thujene	0.7
Alpha-pinene	3.2
Beta-pinene	4
Sabinene	41.9
Myrcene	2.7
Alpha-phellandrene	0.1
Alpha-terpinene	0.9
p-Cymene	1
Limonene	2
Beta-phellandrene	0.2
Gamma-terpinene	1.8
Sabinene hydrate-cis	0.3
Terpinolene	0.4
trans-Sabinene hydrate	0.2
cis-p-Menth-2-en-1-ol	0.2
trans-p-Menth-2-en-1-ol	0.1
Terpinen-4-ol	7.1
Alpha-copaene	0.4
Beta-elemene	1.6
Beta-caryophyllene	2.8
Aromadendrene	0.2
Alpha-humulene	0.4
Allo-aromadendrene	0.9
Germacrene D	4.2
Beta-selinene	0.5
Bicyclogermacrene	4.5
Gamma-cadinene	2.2
Delta-cadinene	1.8
Spathulenol	2.2
Caryophyllene oxide	0.4

Fuente: (Guala et al., 2016).

Penicillium Digitatum es el tipo de hongo más común en todos los cítricos post cosecha y se luce generalmente en el periodo de comercialización. También llamado como moho verde, descompone los frutos cítricos, color verde, daña a la fruta cuando ésta presenta heridas en su superficie y se presenta cuando la temperatura esta entre 20°C y humedad relativa es muy alta. Se necesita una herida fresca de 0.25 mm para una infección. (Rasmus, A., Lennox, CL, Korsten, L., Lesar, K. y Fourie, PH, 2016). *P. Digitatum* se considera un experto patógeno de los cítricos que infecta eficazmente la cáscara a través de lesiones en las que las esporas de hongos ubicuas germinan y colonizan ágilmente las áreas circundantes (Rodríguez et al., 2014).

Las colonias son planas y crecen rápidamente en agar de extracto de malta y agar de dextrosa de papa, pero mal en agar Czapek y medios sintéticos similares (Tang et al., 2018). La colonia el anverso es verde oliva y el reverso incoloro a amarillo crema o pálido opaco marrón (Lafuente et al., 2019). La textura de la colonia es velutinoso sin gotas exudadas. (Niu et al., 2016). Los hongos tienen la capacidad de germinar en ambientes artificiales a 5 ° C y, en algunos casos, puede producir colonias de hasta 3 mm de diámetro no hay crecimiento a los 37 ° C (Ruan et al., 2017). El olor puede ser fuerte, ya que los metabolitos volátiles como el limoneno se han detectado etileno, alcohol etílico, acetato de etilo o acetato de metilo. (Palou, L. 2014).

Tabla 3: Taxonomía *Penicillium Digitatum*

Taxonimia	
Reino	Hongos
Division	Ascomycota
Sudivision	Pezizomycotina
Clase	Eurotiomycetes
Subclase	Eurotiomycetidae
Orden	Eurotiales
Familia	Trichocomaceae
Genero	Penicillium
Especie	Digitatum

Fuente: (Palou, L. 2014).

Los procesos de destilación se basan en la volatilidad relativa de las componentes de mezcla y se pueden aplicar para la separación de una amplia gama de compuestos orgánicos volátiles de la pirolisis del petróleo. La inyección de vapor calienta el aceite, aumenta la presión de vapor total y disminuye su punto de ebullición. (Jerkovic et al., 2012). La adición de vapor permite la mezcla de agua orgánica que hierve a temperaturas inferiores a 100 ° C, evitando la degradación de compuestos térmicamente sensibles. (Kim, J.-S., 2015). El vapor de la destilación se puede aplicar para separar componentes importantes de una variedad de tipos de aceite, que comprende aceites esenciales [39] y aceites crudos. (Masango, P., 2005). La destilación al vapor también se ha utilizado con éxito para obtener valiosas sustancias de aceites de pirolisis. Se extrajo el eucaliptol (1,8-cineol), se extrajo siringol de alta pureza (1,3-dimetoxi-2-hidroxibenceno) obtenido a partir de aceite de pirolisis derivado de la madera mediante destilación al vapor. (Costa, G., Dos Santos R., 2019).

La concentración mínima inhibitoria (CMI), es la concentración mínima de desinfectante problema capaz de inhibir el crecimiento o la reproducción de un determinado patógeno. (Satoh et al., 2019).

In vitro se describe a un método al realizar un experimento en un tubo de ensayo o, por lo general, en un entorno modificado fuera de un organismo vivo. La incubación in vitro es un ejemplo grandemente conocido. (Niu et al., 2018). Asimismo, un Halo es la demarcación alrededor de la placa que contiene antibióticos a los que el cuerpo es sensible. (Simas et al., 2017).

El control de patógenos con aceites esenciales y extractos de plantas es un terreno poco analizado en nuestro país, sin embargo, por varios años ha habido presencia del conocimiento de las propiedades de las plantas y sus diferentes usos. El uso de estas plantas y sus elementos han sido de forma artesanal. La problemática general en cultivos de naranja, por hongos *Penicillium Digitatum* en cultivos post cosecha conlleva a una discusión en los productores y comerciantes en el país. La necesidad de buscar opciones que sean viables para los productores nos da la pauta para determinar la acción inhibitoria del aceite de esencia de naranja, que favorecerá en el futuro

a un gran número de agricultores. El interés de esta investigación va encaminada a la búsqueda de nuevos productos biológicos que pueden ser de menor costo y lo más importantes que tienen un efecto menos nocivo que los productos químicos en el medio ambiente. En consecuencia, se planteó la formulación de los problemas del proyecto de investigación, empezando por el problema ¿Cuál es la efectividad del aceite de molle para inhibir el crecimiento de la *Penicillium Digitatum*? y posteriormente los problemas ¿Cuál es la concentración mínima Inhibitoria del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) para inhibir el crecimiento in vitro de *Penicillium Digitatum*? ¿Cuál es la mejor concentración para Inhibir el crecimiento de halo usando el aceite esencial de molle sobre el crecimiento de *Penicillium Digitatum*? Entonces se pretende confirmar la hipótesis general: El Aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) tiene efectividad para inhibir el crecimiento *Penicillium Digitatum* y las hipótesis específicas: Existe una concentración mínima Inhibitoria del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) para inhibir el crecimiento *Penicillium Digitatum*. A mayor concentración del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) mayor efectividad para inhibir el crecimiento de *Penicillium Digitatum*. En torno a ello, se planteó como objetivo general, Evaluar la efectividad del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) para inhibir el crecimiento *Penicillium Digitatum* y como objetivo específico: Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) para inhibir el crecimiento *Penicillium Digitatum*. Determinar la concentración que tiene más efectividad para la inhibición del crecimiento diámetros de halo de *Penicillium Digitatum* cuando se expone a diferentes concentraciones del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.).

III.METODOLOGÍA

3.1 Tipo y Diseño de Investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, porque se realizará la manipulación de la variable independiente “Aceite Esencial de molle” y luego se observará un efecto de inhibición de *Penicillium Digitatum*.

Diseño de Investigación, respecto a los tratamientos del aceite esencial de molle (*Schinus molle*L.) expresados en concentración V/V ((μ L/mL) y el probable crecimiento de inhibir de *Penicillium Digitatum*.

Tabla 4: Repeticiones de Experimentos.

N°	Tratamiento	Porcentaje de Concentración	N° Repeticiones
1	Tratamiento (T1)	1	4
2	Tratamiento (T2)	0.75	4
3	Tratamiento (T3)	0.5	4
4	Tratamiento (T4)	0.25	4

Fuente: Elaboración Propia.

Para determinar la inhibición se continuó a medir el diámetro de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones de la muestra.

Cada Tratamiento se le realizó 4 repeticiones para comparar diferentes resultados y tener promedio por tratamiento. (Aguilar Cisneros, 2016).

Fase Exploratoria

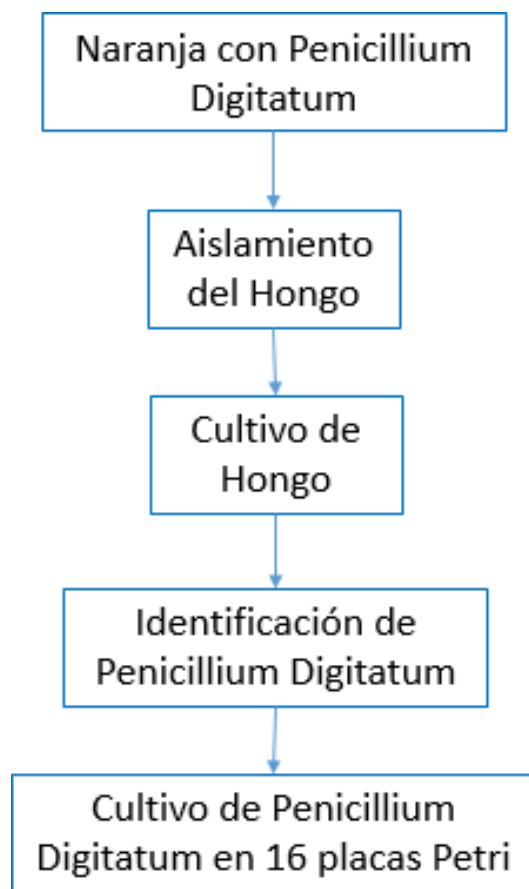


Figura 1: Fase Aislamiento y Cultivo de Cepa.

Mediante el cultivo de las cepas de *Penicillium Digitatum*, se obtuvo el aceite esencial de molle mediante destilación por arrastre de vapor, posteriormente se aplicaron diluciones de 100%, 75%, 50% y 25% teniendo una base de 0.1 ml del aceite (100%).

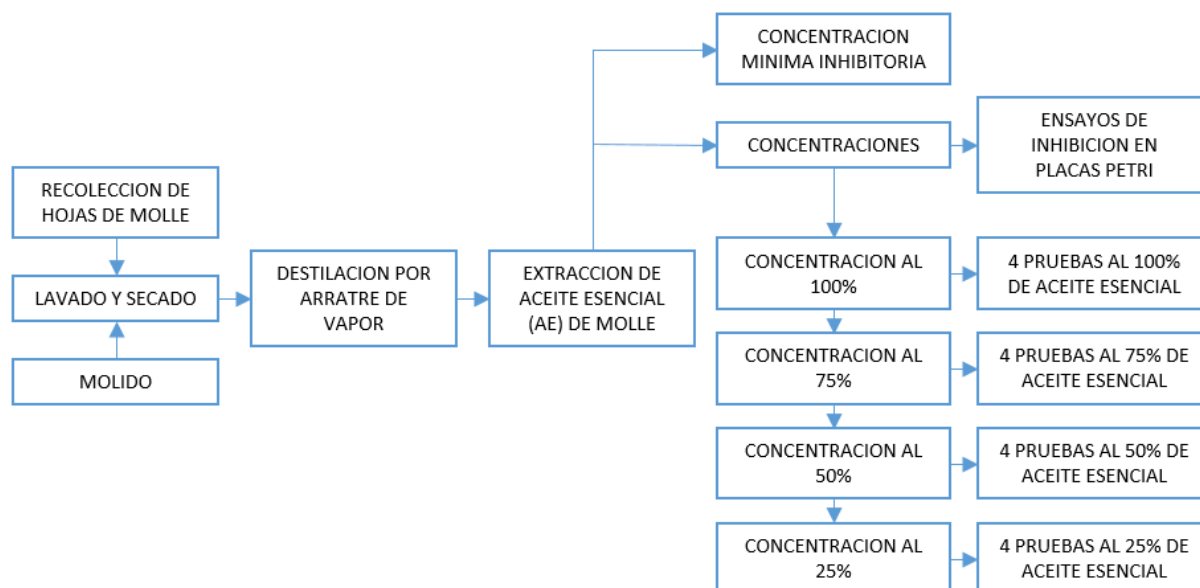


Figura 2: Diagrama de flujo de análisis.

3.2 Operacionalización de Variables

Variable Independiente

Efectividad del aceite esencial de molle.

Variable Dependiente

Inhibición de crecimiento *Penicilium Digitatum*.

Tabla 5: Matriz de Operacional.

Efectividad del Aceite Esencial de Molle (Schinus molle L.) para Inhibir el crecimiento de la Penicillium Digitatum In Vitro					
Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Ítem
Variable Independiente	Definición conceptual de la variable 1	Esencia extraída mediante el proceso de destilación simple de la hoja de molle	Dimensión 1.1	Indicador de la dimensión 1.1	Escala del indicador de la dimensión 1
Aceite Esencial	El aceite esencial es un líquido con fragancia que se extrae de ciertas plantas mediante vapor o prensado. Los aceites esenciales contienen sustancias químicas naturales que le dan su "esencia" (olor y sabor específicos) a las plantas. Los aceites esenciales se emplean en los perfumes, los saborizantes de alimentos, los medicamentos y la aromaterapia. (W.P.Silvestrea N.F.Livinalli C.Baldasso I.C.Tessarora, 2018)		Distintas Concentraciones	microgramos por mililitro	µg/ml
			Dimensión 1.	Indicador de la dimensión 1.2	Escala del indicador de la dimensión 2
			Dosis	mililitros	ml
Variable Dependiente	Definición conceptual de la variable 2	Aislamiento de Penicillium Digitatum	Dimensión 2.1	Indicador de la dimensión 2.1	Escala del indicador de la dimensión 2.1
Crecimiento In Vitro de Penicillium Digitatum	Penicillium Digitatum es el tipo de hongo más común en todos los frutos cítricos en postcosecha y se presenta a lo largo de todo el ciclo de comercialización. También conocido como moho verde. (Zhu, C., Lei, M., Andargie, M., Zeng, J., & Li, J. 2019 p 46)		Halos de Inhibición	Milímetros	mm
			Dimensión 2.2	Indicador de la dimensión 2.2	Escala del indicador de la dimensión 2.2
			Concentración Mínima Inhibitoria	Muestra	Und.

Fuente: Elaboración Propia.

3.3 Población, Muestra y Muestreo Población

Población

Comprende a todos arboles de molle ubicados en los distintos parques y áreas verdes de la urbanización Manco Inca en el distrito de San Juan de Lurigancho.

Muestra

Comprende a 5 kg de hojas de molle recolectadas.

Muestreo

Corresponde al aceite esencial extraído de molle por el método destilación por arrastre de vapor de agua.

3.4 Técnicas e Instrumento de Recolección de Datos, Validez Y Confiabilidad

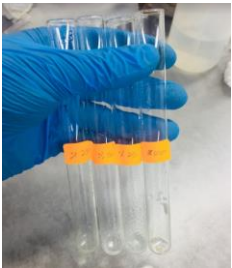
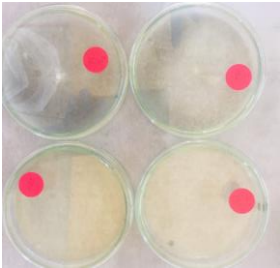
Técnicas



La técnica para la investigación aplicada en el estudio es la observación directa.

Instrumento de recolección de datos

Materiales

Tabla 6: Materiales de Laboratorio.

Tubos de Ensayo	Placas de Petri
	

Sistema de Destilación de Vapor Simple	Calibrador
	

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 7: Equipo de Laboratorio de la Universidad Cesar Vallejo Lima – Este.

Equipo		Modelo	Serie
Balanza Analítica		ESJ200-4	166388
Incubadora marca BIOBASE		B5PX-ELM	FSF2017020465

Fuente: Elaboración Propia.

Validez y Confiabilidad

La validez se obtendrá mediante la validación de los instrumentos necesarios en el laboratorio de la Universidad del Cesar Vallejo-Lima Este.

3.5 Procedimiento

Cultivo de Cepas de *Penicillium Digitatum*

Las cepas de *Penicillium Digitatum* se cultivaron en caldo de papa dextrosa (PDB) o agar de papa dextrosa (PDA). Los cultivos se incubaron a 25 ° C con luz continua

durante 1, 2 o 3 días (cultivos líquidos) dependiendo del experimento posterior, o hasta 1 semana (medio sólido). (De Ramón- Carbonell, M., y Sánchez-Torres, 2017).

Destilación por Arrastre de Vapor

La destilación de vapor simple, que contenía un matraz generador de vapor de 2000 ml, un matraz de destilación de 500 ml, un condensador y un matraz receptor de 250 ml en el laboratorio de biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo, cuando el agua hirvió, el vapor vaporizado pasó a través del matraz de destilación que contenía el aceite, se retiraron los componentes volátiles y luego se condensaron al pasar el tubo enfriado. El matraz receptor se usó para recoger el volátil. El tiempo de extracción de los componentes duró 100 min mediante destilación de vapor. (Chen, L., Liu, Y.-L. y Deng, J.-L, 2019).

Concentración Mínima Inhibitoria

La determinación de la concentración más baja del aceite esencial sin crecimiento visual de hongos, después de 4 h se consideró como concentración inhibitoria mínima (MIC). Para hallar la CMI se prepararon 16 tubos de ensayo previamente esterilizados y rotulados del número 1 al número 16.

A continuación, se detalla el procedimiento:

- A partir del tubo N° 1 hasta el tubo N°16 se agregó 1 ml del caldo nutritivo (Agar de Caldo de Papa Dextrosa)
- Posteriormente se agregó 1 ml de la concentración del aceite esencial al tubo N°1, a partir del cual se traspasó 1 ml al tubo N°2 y así sucesivamente hasta el tubo N°16.
- Luego se agregó 1 ml del inóculo de *Schinus molle* L. a todos los tubos de ensayo y se llevó a incubación a 30°C por 5 días.

3.6 Métodos de Análisis de Datos

La información fue recolectada en un archivo Excel desarrollado en el software SPSS, el cual acordó compilar tablas y el análisis estadístico correspondiente. La estadística desarrollada en este estudio es un ANOVA multivariado.

3.7 Aspectos Éticos

La realización del presente proyecto de investigación de tesis, está comprometida a respetar y cumplir la Ética Profesional, desde una perspectiva teórica con los elementos esenciales de la moral ambiental, social e individual; y el asunto de vista esencial por medio de reglas y normas de conducta sociales e individuales.

Dada la importancia del estudio y los aspectos que cubre, el investigador se compromete a tratar con honestidad los resultados de los estudios ambientales y demográficos que obtuvimos en el sitio de nuestro estudio, y en su análisis estadístico.

También juro que los datos presentados en el estudio son nuevos, verdaderos y fácticos, y que también serán preparados exclusivamente por el mismo investigador, y cualquier resumen o dato de presentación con otro autor será indicado como reconocimiento a su ayuda en este investigar.

IV.RESULTADOS

Con el propósito de determinar la concentración más efectiva para la inhibición de *Penicillium Digitatum* cuando se expone a diferentes concentraciones del aceite esencial se utilizó en primerlugar, una prueba de normalidad. Cuando se analizan más de 50 datos se utiliza la prueba de normalidad de Kolgomorov-Smirnov, cuando se analizan menos de 50 datos se emplea la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, de manera que para esta investigación se utilizó esta última prueba de normalidad; (pues se utilizó en definitiva 5 datos promediados por cada tratamiento). Luego de ello, se tuvo en cuenta que, si hay normalidad en las distribuciones de datos analizadas, se utiliza la prueba ANOVA, de lo contrario se utilizaría la prueba de Kruskall-Wallis. Estas pruebas indican si hay diferencias significativas entre los tratamientos empleados para la inhibición de *Penicillium Digitatum*. De encontrarse diferencias significativasentre los tratamientos empleados se buscaría el tratamiento más efectivo mediante una prueba Post-Hoc.

Resultados por Días Cuadro Datos

Tabla 8: Cuadro de Datos Generales Día 1.

Día 1					
Concentraciones	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4 (mm)	Promedio (mm)
100%	3.1	2.9	2.7	3.9	3.15
75%	5.1	4.09	3.02	4.51	4.18
50%	4.91	4.23	4.05	3.83	4.26
25%	8.2	10.4	9.5	4.36	8.12

Fuente: Elaboración Propia.

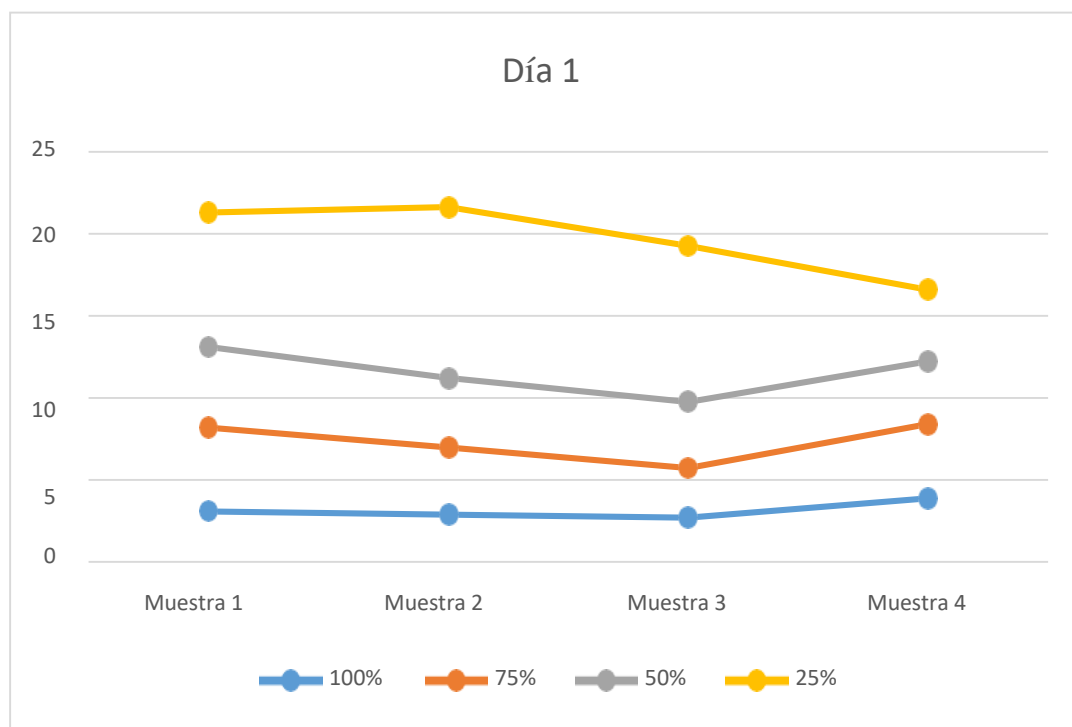


Figura 3: Resultado Día 1.

Interpretación 1: La inhibición mayor al primer día es de 10.4 mm que pertenece al porcentaje de concentración al 25%, la menor inhibición es de 2.7 mm que pertenece al porcentaje del 100%. El porcentaje más eficiente al primer día es el de 25 % ya que tiene un promedio de 8.12mm de inhibición.

Tabla 9: Cuadro de Datos Generales Día 2.

Día 2					
Concentraciones	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4 (mm)	Promedio (mm)
100%	6.47	6.13	5.69	8.12	6.60
75%	9.89	7.92	6.74	9.31	8.47
50%	9.78	8.34	7.96	7.51	8.40
25%	14.2	12.64	15.23	8.52	12.65

Fuente: Elaboración Propia.

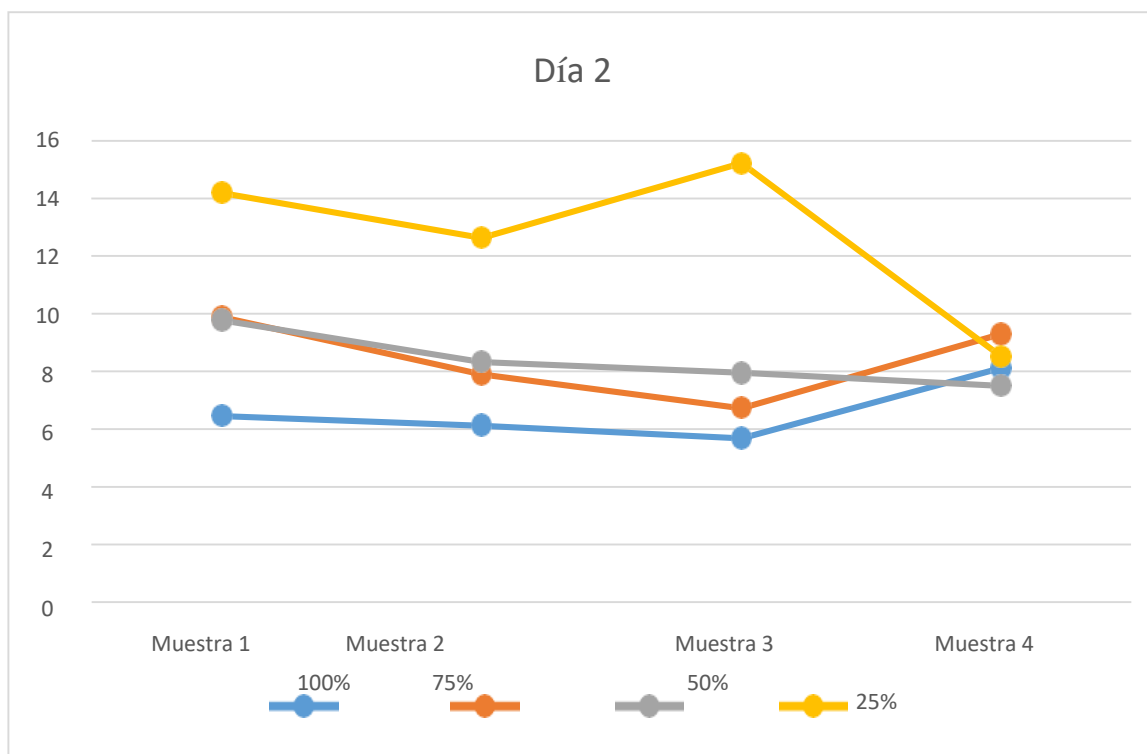


Figura 4: Resultado Día 2.

Interpretación 2: La inhibición mayor al primer día es de 15.23 mm que pertenece al porcentaje de concentración al 25%, la menor inhibición es de 5.69 mm que pertenece al porcentaje del 100%. El porcentaje más eficiente al primer día es el de 25 % ya que tiene un promedio de 12.65 mm de inhibición.

Tabla 10: Cuadro de Resultados Día 3.

Día 3					
Concentraciones	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4 (mm)	Promedio (mm)
100%	9.6	9	8.4	13.8	10.20
75%	14.85	11.38	10.26	13.19	12.42
50%	15.16	12.58	11.46	10.85	12.51
25%	19.76	26.36	23.41	12.23	20.44

Fuente: Elaboración Propia.

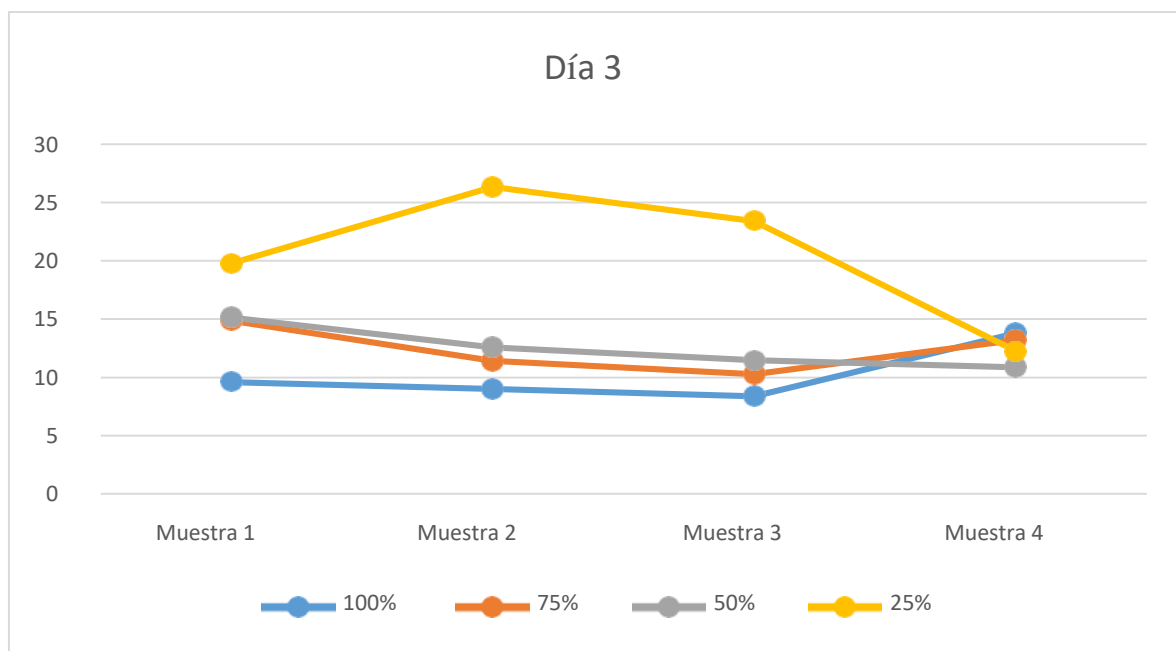


Figura 5: Resultado Día 3.

Interpretación 3: La inhibición mayor al primer día es de 26.36 mm que pertenece al porcentaje de concentración al 25%, la menor inhibición es de 8.4 mm que pertenece al porcentaje del 100%. El porcentaje más eficiente al primer día es el de 25 % ya que tiene un promedio de 20.44 mm de inhibición.

Tabla 11: Cuadro de Datos de Día 4.

Día 4					
Concentraciones	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4 (mm)	Promedio (mm)
100%	12.8	11.74	11.2	15.19	12.73
75%	19.21	15.28	13.54	18.37	16.60
50%	21.25	15.23	17.87	15.57	17.48
25%	29.74	32.82	30.24	16.61	27.35

Fuente: Elaboración Propia.

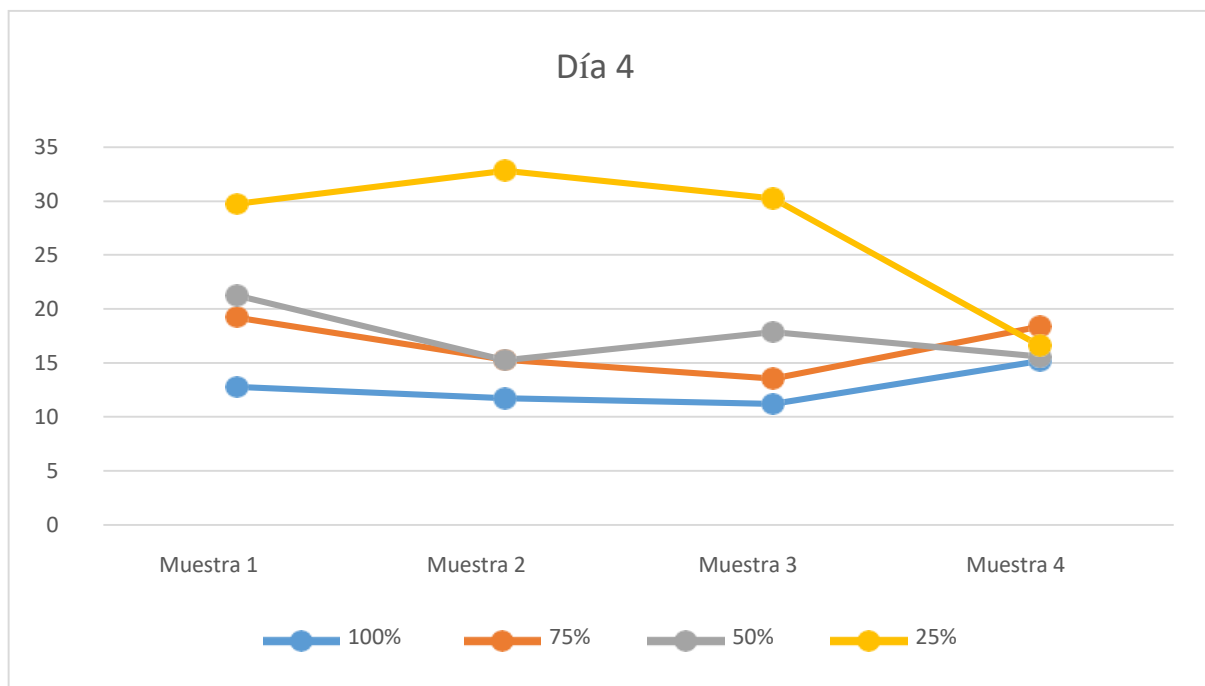


Figura 6: Resultado Día 4.

Interpretación 4: La inhibición mayor al primer día es de 32.82 mm que pertenece al porcentaje de concentración al 25%, la menor inhibición es de 15.19 mm que pertenece al porcentaje del 100%. El porcentaje más eficiente al primer día es el de 25 % ya que tiene un promedio de 27.35 mm de inhibición.

Tabla 12: Cuadro de Datos de Día 5.

Día 5					
Concentraciones	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4 (mm)	Promedio (mm)
100%	16.65	15.19	14.84	20.47	16.79
75%	25.17	20.89	17.41	23.84	21.83
50%	25.23	21.74	20.51	19.95	21.86
25%	37.21	41.09	35.14	19.23	33.17

Fuente: Elaboración Propia.

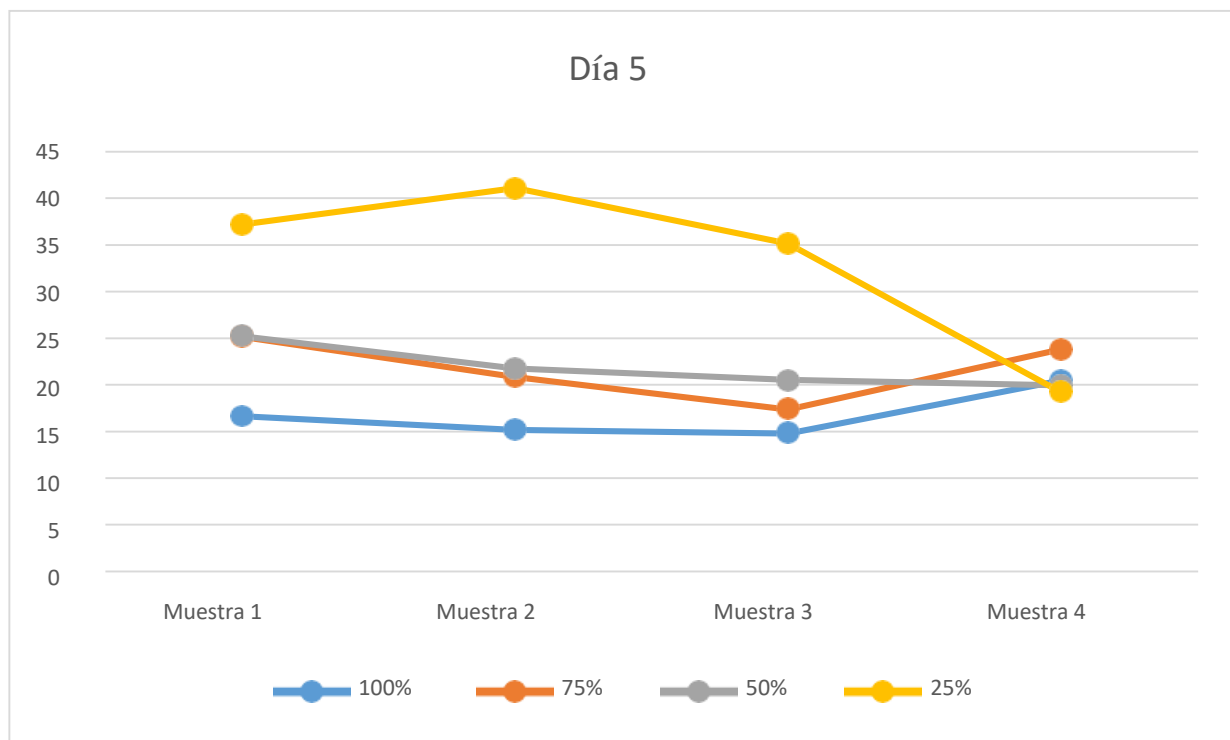


Figura 7: Resultado Día 5.

Interpretación 5: La inhibición mayor al primer día es de 41.09 mm que pertenece al porcentaje de concentración al 25%, la menor inhibición es de 20.47 mm que pertenece al porcentaje del 100%. El porcentaje más eficiente al primer día es el de 25 % ya que tiene un promedio de 33.17 mm de inhibición.

Cuadro Comparativos de control general

Tabla 13: Tabla de Control General.

Concentraciones	Inhibición Control	Inhibición 1	Inhibición 2	Inhibición 3	Inhibición 4	Inhibición 5
100%	0	3.15	6.6	10.2	12.73	16.79
75%	0	4.18	8.47	12.42	16.6	21.83
50%	0	4.26	8.4	12.51	17.48	21.86
25%	0	8.12	12.65	20.44	27.35	33.17

Fuente: Elaboración Propia.

Interpretación 6: La inhibición mm que pertenece al porcentaje de concentración al 25%.

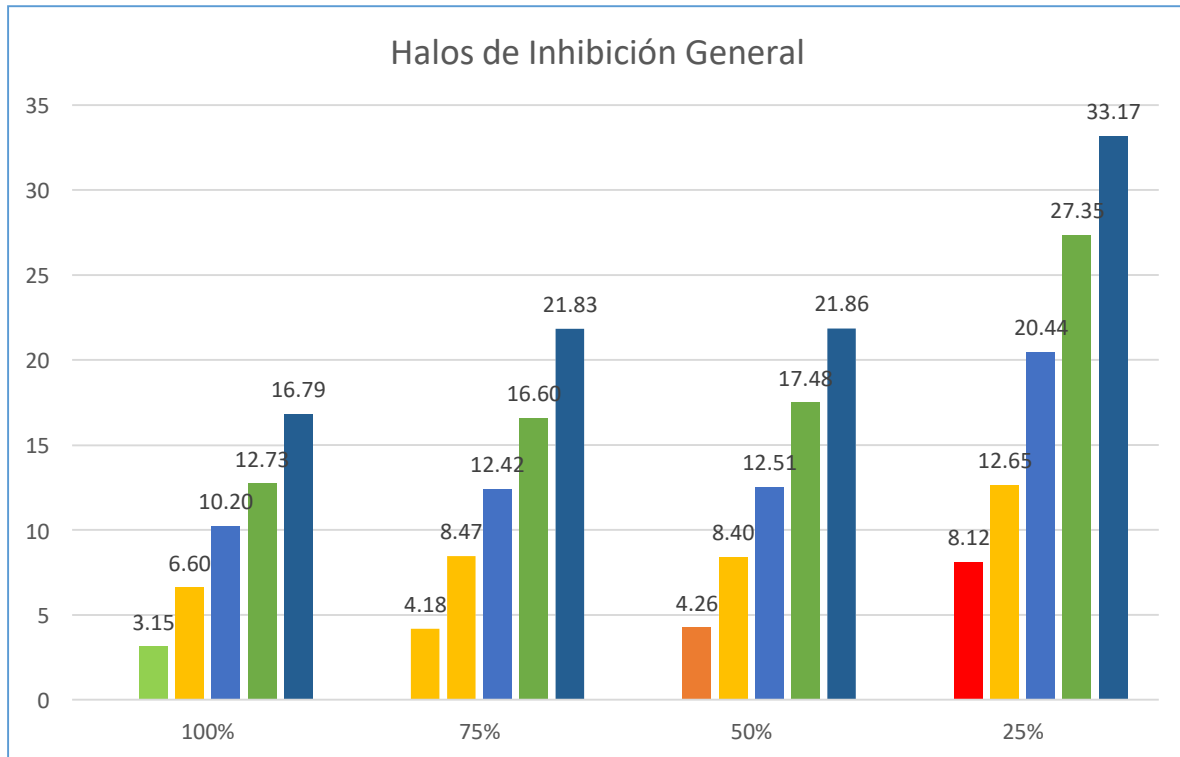


Figura 8: Datos Generales de Inhibición.

Prueba de normalidad

a) Hipótesis

Ho: Las cantidades de la inhibición de *Penicillium Digitatum*, de la concentración de aceitesesencial de molle analizada, poseen distribución normal.

H1: Las cantidades de la inhibición de *Penicillium Digitatum*, de la concentración de aceitesesencial de molle analizada, no poseen distribución normal.

b) Nivel de significancia

a: 0,05

c) Regla de rechazo

Si Sig. < a: se debe rechazar la Hipótesis nula, H0, aceptado: "H1".

Si Sig. > a: no se debe rechazar la Hipótesis nula, H0, rechazando: "H1".

Tabla 14: Pruebas de normalidad de Shapiro Wilk.

Pruebas de normalidad				
	Distintas concentraciones de aceite esencial de molle	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Tamaño de inhibición en mm	100%	0,993	5	0,988
	75%	0,991	5	0,984
	50%	0,983	5	0,948
	25%	0,966	5	0,850

Fuente: Elaboración Propia.

d) Interpretación

En la tabla se puede observar que se dieron valores de significancia mayores al nivel de significancia de 0,05; por lo cual se rechaza la hipótesis nula y se infiere que las cantidades de la inhibición de *Penicillium Digitatum*, de las diferentes concentraciones de aceite esencial de molle, poseen distribución normal.

En vista de los resultados de la prueba de normalidad se debe utilizar la prueba ANOVA para analizar si existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con distintas concentraciones de aceite esencial de molle.

Prueba ANOVA

a) Hipótesis

Ho: No existen diferencias significativas entre los tratamientos con distintas concentraciones de aceite esencial de molle para la inhibición de *Penicillium Degitatum*.

H1: Existen diferencias significativas entre los tratamientos con distintas concentraciones de aceite esencial de molle para la inhibición de *Penicillium Degitatum*.

b) Nivel de significancia

a: 0,05

c) Regla de rechazo

Si, Sig. < α : se debe rechazar la Hipótesis nula H_0 , aceptado: " H_1 ".

Si Sig. > α : no se debe rechazar la Hipótesis nula, H_0 , rechazando: " H_1 ".

Tabla 15: Prueba ANOVA de las distintas concentraciones de aceite esencial de molle.

ANOVA					
Tamaño de Inhibición en mm					
	Suma de Cuadrados	gl.	Media Cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	300,102	3	100,034	1,740	0,199
Dentro de grupos	919,685	16	57,480		
Total	1,219,786	19			

Fuente: Elaboración Propia.

d) Interpretación

La significancia dio como resultado 0,199, es decir mayor al nivel de significancia de 0,05, de manera que no se debe rechazar la hipótesis nula (H_0) y, por tanto, no presentan diferencias significativas entre los tratamientos con distintas concentraciones de aceite esencial de molle para la inhibición de *Penicillium Digitatum*.

Al no encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos con distintas concentraciones de aceite esencial de molle, solamente se puede analizar cuál tratamiento posee mayor inhibición de *Penicillium Digitatum* de forma descriptiva. A continuación, se muestra el gráfico de medias sobre las distintas cantidades de inhibición a las que se llegó con los tratamientos empleados.

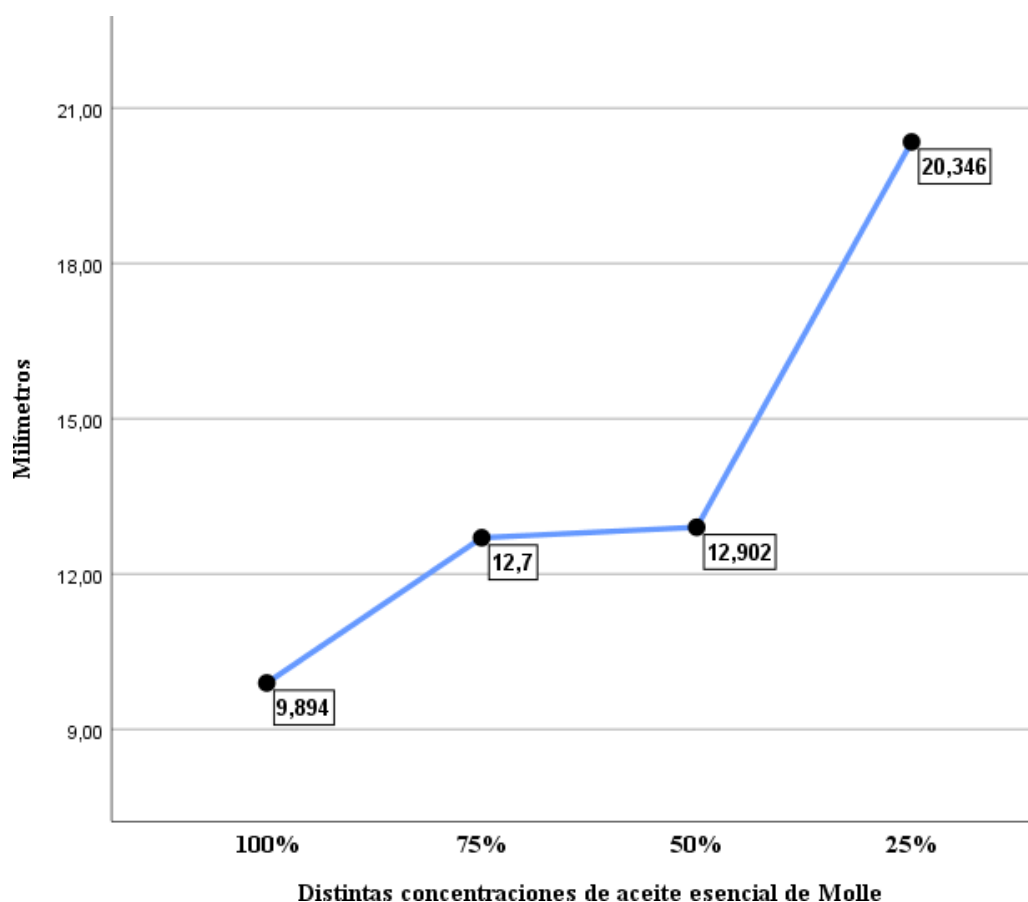


Figura 9: Medias de las cantidades en mm de inhibición de *Penicillium Digitatum* mediante las distintas concentraciones de aceite esencial de molle.

En el gráfico se puede observar que el tratamiento con 25% de concentración de aceite esencial de molle posee mayor cantidad de inhibición de *Penicillium Digitatum*, con un promedio de 20,346 mm. Le sigue el tratamiento con 50% de concentración de aceite, con un promedio de 12,902 mm. Por otro lado, se encuentra el tratamiento con 75% de concentración, con 12,7 mm. Finalmente, se encuentra el tratamiento con 100% de concentración de aceite, con inhibición de 9,894 mm. A su vez se observa una tendencia a que, a mayor cantidad de concentración de aceite esencial de molle, menor cantidad de inhibición de *Penicillium Digitatum*.

V. DISCUSIÓN

Según los Resultados de Jennifer (2014) en su aporte científico determino usando el aceite de molle (*Schinus molle* L.) la media de los halos de crecimiento en milímetros; Se observó un halo de control de aceite esencial de gusano de seda al 2% de 0,61 mm. 0,81 mm en un 4%; 0,83 mm en un 6%; 0,88 mm en un 8%; 0,90 mm en un 10% y 1,23 mm en un 12%. Según Gómez (2016) en su investigación obtuvo un halo de inhibición promedio de 19.72 mm para el extracto de *Camellia sinensis* (té verde) mientras que en este estudio se encontró que el extracto alcohólico de *Schinus molle* se encontró el mayor halo de inhibición con un promedio de 10.4 mm y 12.5 mm en las concentraciones de 22.5 mg/mL y 25 mg/mL respectivamente, y la media más baja 7.2 mm y 7.6 mm en las concentraciones de 2.5 mg/mL y 5 mg/mL respectivamente, concluyendo que el extracto tenía mayor efecto antibacteriano a concentraciones más altas.

El presente estudio de investigación de tipo experimental in vitro se investigó la efectividad del Aceite Esencial del molle para inhibir el crecimiento de la *Penicillium Digitatum* a distintas concentraciones como 25 ug/ml tuvo mayor efecto inhibitorio determinado por el mayor diámetro a comparación de las demás concentraciones. Se extrajo el aceite esencial del molle utilizando sus hojas mediante el método de Arrastre de Vapor. Según (Ferdes, 2017) los efectos antifúngicos de la salvia, el romero, el anís, la quinua y los aceites esenciales salados contra el aumento del micelio de *Fusarium oxysporum* se mostró que en condiciones in vitro. Mientras que los 10 µg / ml de aceite esencial salado mostraron un efecto inhibitorio contra los hongos probados.

VI.CONCLUSIONES

- El aceite esencial de molle tiene una efectividad inhibitoria para inhibir el crecimiento de la *Penicillium Digitatum* usando aceite esencial de molle en distintas concentraciones. Cual el que presenta el mayor promedio de Inhibición es usando el aceite esencial de molle al 25% de concentración.
- La concentración mínima inhibitoria (CMI), del aceite esencial del molle obtenido es capaz de inhibir el crecimiento de *Penicilium Digitatum* con la concentración al 60% del aceite esencial con el método de inducción de agar en baquelita, se colocó las muestras en la incubadora durante en el periodo indicado con la temperatura planteada de la presente investigación.
- El aceite esencial del molle para inhibir el crecimiento de *Penicillium Digitatum* la concentración que tiene más afecto inhibitorio es la menor de las concentraciones propuestas en la siguiente investigación.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más pruebas de inhibición de hongos patógenos utilizando diferentes plantas frutos y ramas. Contra la *Penicilium Digitatum* así buscar el aceite esencial que inhibí en su totalidad este patógeno que daña a los frutos de pos cosecha generando pérdidas económicas. Se recomienda el uso de estos aceites en mercados mayoristas para conservar los cítricos que están a la venta.
- Realizar estudios con diferentes plagas o enfermedades que sufren las cosechas de cítricos aplicando aceites esenciales por destilación por arrastre de vapor. Emplear pruebas con el aceite en diferentes usos por ejemplo como medicina, combate plagas depulgas o garrapatas en el ganado.
- Comparar la extracción del aceite esencial del molle con otros métodos de destilación para comparar el nivel de concentración para hallar la destilación más efectiva en proceso del estudio.

REFERENCIAS

1. ABHISHEK Kumar Dwivedy [et al]. Chemically characterized *Mentha cardiaca* L. essential oil as plant based preservative in view of efficacy against biodeteriorating fungi of dry fruits, aflatoxin secretion, lipid peroxidation and safety profile assessment[En línea]. Mayo 2017, Volumen 106 Parte A. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691517302776>
2. AGUILAR Castillo, Katherine. Efecto sinérgico antifúngico del aceite esencial de canela "*cinnamomum verum*" solo y acompañado con ketoconazol en cepas de *Candida albicans* estudio in vitro. Tesis (Título Profesional Médico Cirujano). Lima:Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, 2016. 13pp.
3. AHMADY, S., REZAEI, M. y KHATONY, A. Comparación de los efectos de la aromaterapia con el aceite esencial de lavanda y el aceite esencial de naranja sobre la fatiga de los pacientes en hemodiálisis. [en línea]. Agosto 2019. Volumen 36 Pág. 64-68. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1744388118306194>
4. CHEN, L., LIU, Y.L. y DENG, J. L., Eliminación de ésteres de ácido ftálico del aceite de pulpa de espinillo amarillo (*Hippophae rhamnoides* L.) mediante destilación al vapor y destilación molecular [en línea]. Octubre 2019, vol. 294 pág. 572-577. [Fecha de consulta: 14 de octubre de 2019]. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619308933>
5. COSTA, G., DOS SANTOS R., Fractionation of tire pyrolysis oil into a light fuel fraction by steam distillation [en línea]. Abril 2019, vol. 241. pág. 558 - 563. [Fecha de consulta: 25 de noviembre de 2019].
Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236118321380>

6. DUŠICA P. Ilić., [et al]. Improvement of the yield and antimicrobial activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oil by fruit milling [en línea]. Diciembre 2019, vol. 142. [Fecha de consulta: 10 de noviembre 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669019308647>
7. DE RAMÓN, Marta, SÁNCHEZ, Paloma, PdSl2 *Penicillium Digitatum* proteína quinasa activada por mitógeno controla la esporulación y la virulencia durante la infección de cítricos [en línea]. Diciembre 2017, vol. 121 pág. 1063-1074. [Fecha de consulta: 11 de octubre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878614617301277>
8. ERASMUS A. [et al]. Resistencia al imazalil en *Penicillium Digitatum* y *P. italicum* que causan moho verde y azul después de la cosecha de cítricos: impacto y opciones. A review, [En línea]. Setiembre 2015, Volumen 107. pág. 66-76. [Fecha de consulta: 22 de octubre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521>
9. FERDES, M., [et al]. Efecto inhibitorio de algunos aceites esenciales de plantas sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Mucor pusillus* y *Fusarium oxysporum*, [en línea]. Noviembre 2017, vol. 113 pág. 457- 460. [Fecha de consulta: 15de noviembre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629917303629>
10. GOMEZ Vera, Enrique. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Schinus molle* (molle) sobre streptococcus mutans ATCC 25175. Tesis (Título Profesional Cirujano Dentista). Piura: Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, 2016. 44 pp.

11. GUALA, Maria, [et al]. Chapter Rose Pepper (*Schinus molle* L.) Oils. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety [en línea]. 2016, pág. 689 – 695. [Fecha de consulta: 10 de diciembre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/book/9780124166417/essential-oils-in-food-preservation-flavor-and-safety>
12. GUERRA Priscila [et al]. Extracts of Stevia rebaudiana against Fusarium oxysporum associated with tomato cultivation, [En línea]. Enero 2018, Volumen 259. [Fecha de consulta: 19 de octubre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423819305692>
13. HIMED, Louiza., [et al]. Antioxidant activity of the essential oil of citrus limon before and after its encapsulation in amorphous SiO₂ [en línea]. Noviembre 2019, vol. 6. [Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468227619307422>
14. JASSO D. [et al]. Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi [en línea]. Abril 2017, Volumen 107. [Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017302844>
15. JERKOVIC, I., STAVAR, M., MARIJANOVIC, Z., y GUGIC, M., Comparison of headspace solid-phase microextraction and nitrogen purge and steam distillation for determination of terpenes and other volatile organic compounds. Chemistry of Natural Compounds [en línea]. Enero 2012, Volumen 47. pág. 1001-1006. [Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2019].
Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s10600-012-0129-0>

16. KIM, S., Production, separation and applications of phenolic-rich bio-oil – A review. *Bioresource Technology* [en línea]. Febrero 2015, Volumen 178. pág. 90 - 98. [Fecha de consulta: 16 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414012450>

17. LA FUENTE, María, BALLESTER, Ana, y GONZALES, Luis. Involvement of abscisic acid in the resistance of citrus fruit to *Penicillium Digitatum* infection. [en línea]. Agosto 2019, vol. 154 pág. 31 - 40. [Fecha de consulta: 04 de diciembre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521419300857>

18. MACHADO, C., [et al]. *Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*) [en línea]. Febrero 2019, vol. 29. pág. 1-10. [Fecha de consulta: 02 de diciembre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X18303673>

19. MAEMA, L. P., POTGIETER, M., y MAHLO, S. M., Invasive alien plant species used for the treatment of various diseases in Limpopo province, South Africa [en línea]. Julio 2016, vol. 13 pág. 223 - 231. [Fecha de consulta: 07 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28852740>

20. MASANGO, P., Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*. [en línea]. Junio 2005, Volumen 13. pág. 833 - 839. [Fecha de consulta: 02 noviembre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652604000654>

21. MARTINS, M., [et al]. Propiedades antioxidantes, antimicrobianas y toxicológicas de los aceites esenciales Schinus molle L. Revista de Etnofarmacología, [en línea]. Noviembre 2014, vol. 151. [Fecha de consulta: 18 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874113007897>

22. MEDEIROS, Fernando., [et al]. Actividad fungicida de aceites esenciales de especies de Cerrado brasileño contra hongos de descomposición de la madera [en línea]. Octubre 2016, vol. 114. pág. 87 - 93. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830516301986>

23. NIKKHAH Mehdi [et al]. Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit [en línea]. Octubre 2016, vol. 257. [Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160517302891>

24. NIU D. [et al]. Treatment using white rot fungi changed the chemical composition of wheat straw and enhanced digestion by rumen microbiota in vitro. Animal Feed Science and Technology, [En línea] marzo 2018, Volumen 237. [Fecha de consulta: 20 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840117308350>

25. NIU, Yuhui, [et al]. Isolation and characterization of a novel mycovirus from *Penicillium Digitatum* [en línea]. Julio 2016, vol. 494. pág. 15 - 22. [Fecha de consulta: 23 de noviembre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682216300599>

26. PALOU, Luis. Chapter 2- *Penicillium Digitatum*, *Penicillium italicum* (moho verde, moho azul). Decaimiento poscosecha [en línea]. 2014, pág. 45-102. [Fecha de consulta: 19 de octubre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124115521000028>
27. POLATOĞLU, Kaan, KARAKOÇ, Ömer, Cem, Biologically Active Essential Oils against Stored Product Pests, [En línea] Diciembre 2016, Volumen 1. [Fecha de consulta: 15 de octubre de 2019]
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124166417000055>
28. RODRÍGUEZ, A., [et al]. Terpene Down - Regulation Triggers Defense Responses in Transgenic Orange Leading to Resistance against Fungal Pathogens [en línea]. Enero 2014, vol. 164. pág. 321-339. [Fecha de consulta: 24 de noviembre de 2019].
Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3875811/>
29. RUAN, Ruan, CHUNG, Kuang, y LI, Hongye. Functional characterization of the Dsc E3 ligase complex in the citrus postharvest pathogen *Penicillium Digitatum* [en línea]. Diciembre 2017. vol. 205 pág. 99 - 106. [Fecha de consulta: 08 de diciembre de 2019].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094450131730410X>
30. SÁNCHEZ, N., [et al]. Environmentally friendly platforms for encapsulation of an essential oil: fabrication, characterization and application in pests control, [En línea] Diciembre 2018, Volumen 555. [Fecha de consulta: 24 de noviembre de 2019]
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927775718306319>

31. SATOH, M., [et al]. In vitro evaluation of minimum inhibitory concentration of several antibacterial agents against *Rickettsia japonica* using a plaque reduction assay system [en línea]. Noviembre 2019. Vol. 25 pág. 917 - 917. [Fecha de consulta: 10 de diciembre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1341321X19301515>
32. SILVESTRE W.P. [et al]. Pervaporation in the separation of essential oil components: A review, [En línea]. Noviembre 2018, Volumen 93. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224419304212>
33. SINGH, V., [et al]. Evaluación del aceite esencial de *Ocimum sanctum* nanoencapsulado caracterizado químicamente contra hongos aflatoxigénicos que contaminan las materias primas herbales y su novedoso modo de acción como inhibidor de metyglyoxal. [en línea]. Julio 2019, vol. 153. pág. 87 - 95 [Fecha de consulta: 17 de noviembre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576519300190>
34. SIMAS, D. [et al]. Citrus species essential oils and their components can inhibit or stimulate fungal growth in fruit [En línea]. Abril 2017, pág. 108 – 115. [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2019].
Disponibile en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017300262>
35. TANG, N., [et al]. La metabolómica comparativa y el perfil transcriptómico revelan el mecanismo del deterioro de la calidad del fruto y la resistencia de los cítricos contra *Penicillium Digitatum*. Postcosecha [en línea]. Noviembre 2018, vol. 145. pág. 61 - 73. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092552141830320X>

36. TAO, N., [et al]. The terpene limonene induced the green mold of citrus fruit through regulation of reactive oxygen species (ROS) homeostasis in *Penicillium Digitatum* spores [en línea]. Marzo 2019, vol. 277. pág. 414 - 422. [Fecha de consulta: 11 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618319253>

37. VÁSQUEZ, Jennifer, DIAZ, Deyli. Efecto antimicótico in vitro del aceite de molle (*schinus molle* linneo) sobre *Trichophyton mentagrophytes* [en línea]. 2014. Volumen 1. [Fecha de consulta: 05 de septiembre de 2019].

Disponible en:

<http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/EV/article/view/147>

38. WURYATMO, E., [et al]. Effect of volatile citral on the development of blue mould, green mould and sour rot on navel orange [en línea]. Julio 2014, vol. 43 pág. 403 - 411. [Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2019].

Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13313-014-0281-z>

39. XIN, Z., [et al]. Reza Aislamiento de antofino de *Cynanchum atratum* BUNGE (Asclepiadaceae) y su actividad antifúngica contra *Penicillium Digitatum*. Postharvest Biology and Technology [en línea]. Noviembre 2019, vol. 157. [Fecha de consulta: 18 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160517302891>

40. ZNINI, M., [et al]. Composición de aceites esenciales y actividad antifúngica de *Pulicaria mauritanica* Coss., Contra hongos fitopatógenos poscosecha en

manzanas, [en línea]. Diciembre 2013, vol. 54.2 pág. 564 - 569. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2019].

Disponible en:




<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643813001941>

41. ZHU C. [et al]. Antifungal activity and mechanism of action of tannic acid against *Penicillium Digitatum*, [En línea] Agosto 2019, Volumen 107. [Fecha de consulta: 19 de octubre de 2019].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576519300190>

ANEXOS

  **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL 

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 416-USM-2019

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:


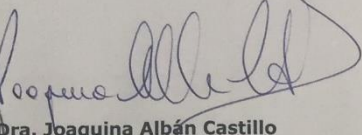
La muestra vegetal (tallo con hojas y botones florales), recibida de Víctor Fernando Quispe Mendoza; estudiante de la Universidad César Vallejo; ha sido estudiada y clasificada como: ***Schinus molle* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE: ROSIDAE
ORDEN: SAPINDALES
FAMILIA: ANACARDIACEAE
GENERO: Schinus
ESPECIE: *Schinus molle* L.

Nombre vulgar: "molle".
Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 28 de noviembre de 2019

 
Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

Figura 10: Constancia de Taxonomía del Molle.

Tabla 16: Matriz de Contingencia

Efectividad del Aceite Esencial de Molle (<i>Schinus molle</i> L.) para Inhibir el crecimiento de la <i>Penicillium Digitatum</i> In Vitro						
PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	Item
General	General	General	Independiente			
¿Cuál es la efectividad del aceite de molle para inhibir el crecimiento de la <i>Penicillium Digitatum</i> ?	Evaluar la efectividad del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.) para inhibir el crecimiento <i>Penicillium Digitatum</i>	El Aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.) tiene efectividad para inhibir el crecimiento <i>Penicillium Digitatum</i>	Efectividad del aceite esencial de molle	Periodo de inhibición	tiempo	µg/ml
				Dosis	Porcentaje de aceite	ml
Específicos	Específicos	Específicos	Dependiente			
¿Cuál es la concentración mínima Inhibitoria del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.) para inhibir el crecimiento in vitro de <i>Penicillium Digitatum</i> ?	Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.) para inhibir el crecimiento <i>Penicillium Digitatum</i>	Existe una concentración mínima Inhibitoria del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.) para inhibir el crecimiento <i>Penicillium Digitatum</i>	Inhibición de crecimiento <i>Penicillium Digitatum</i>	Tamaño de Inhibición	milímetros	mm
¿Cuál es la mejor concentración para Inhibir el crecimiento de halo usando el aceite esencial de molle sobre el crecimiento de <i>Penicillium Digitatum</i> ?	Determinar la concentración que tiene más efectividad para la inhibición el crecimiento diámetros de halo de <i>Penicillium Digitatum</i> cuando se expone a diferentes concentraciones del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.)	A mayor concentración del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.) mayor efectividad para inhibir el crecimiento de <i>Penicillium Digitatum</i>		Concentración Mínima Inhibitoria	muestra	und

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 17: Ficha de recolección de datos

DIA ()					
Concentraciones	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4 (mm)	Promedio (mm)
100%					
75%					
50%					
25%					

Fuente: Elaboración Propia.



Figura 11: Destilación por Arrastre de Vapor.



Figura 12: Extracción del aceite esencial de molle.



Figura 13: Elaboración de placas Petri con caldo de papa dextrosa (PDB).



Figura 14: Aislamiento de *Penicillium Digitatum*.



Figura 15: Cultivo de *Penicillium Digitatum*.

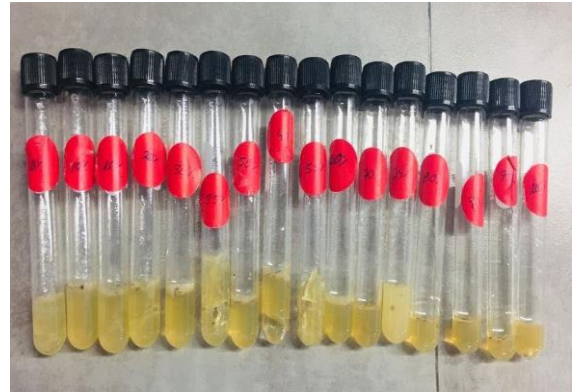


Figura 18: Concentración Mínima Inhibitoria.



Figura 16: *Penicillium Digitatum*.



Figura 19: Incubación de las Cepas.



Figura 17: Distintas Concentraciones.



Figura 20: Medición de Halos de Inhibición.